

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ A01N1/02, C07D487/04

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ A01N1/02, C07D487/04

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用了電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CAPLUS (STN)

REGISTRY (STN)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X Y	CURRIN, R. T., et. al., "Protection by Carolina rinse solution, acidotic pH, and glycine against lethal reperfusion injury to sinusoidal endothelial cells of rat livers stored for transplantation" Transplantation, 1996, Vol. 62, No. 11, p. 1549-1558., 特第1556頁, Table 6. 参照	1, 2 3-6
X Y	OIDA, T., et. al., "The effect of NG-monomethyl-L-arginine (L-NMMA) on orthotopic liver transplantation in rats" Nichidai I gaku Zasshi, 1995, Vol. 54 No. 12, p. 745-50., 特第748-749頁参照	1, 2 3-6

☒ C欄の続きにも文献が列举されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

16. 10. 00

国際調査報告の発送日

31. 10. 00

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)

郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

守安 智

4H

9837

電話番号 03-3581-1101 内線 3443

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	JP, 6-502178, A (Fujisawa Pharmaceutical Co. Ltd.), 10. 3月. 1994 (10. 03. 94) 第5頁左上欄第3行-右上欄第7行参照 & WO, 9212154, A1	3
Y	EP, 531901, A2 (Fujisawa Pharmaceutical Co. Ltd.), 17. 3月. 1993 (1 7. 03. 93) 第3頁第1行-第53行参照 & EP, 531901, A3 & US, 5356897, A & CA, 20 77732, A1 & CN, 1070404, A & HU, 65204, A & JP, 6-287188, A & JP, 7- 088386, B2 & US, 5478827, A & JP, 7-252256, A & US, 5624931, A	4
Y	US, 5670503, A (Fujisawa Pharmaceutical Co. Ltd.), 23. 9月. 1997 (2 3. 09. 97) 第1欄第10行-第2欄第11行参照 & CN, 1120840, A & JP, 8-507056, A & EP, 686156, A1 & WO, 9419350, A1 & IL, 108562, A & CA, 2156919, A1 & AU, 681625, B & HU, 70832, A	5, 6

DOCKET NO.: 220038US0PCT

IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

IN RE APPLICATION OF: Yasuo MORISHITA, et al.

SERIAL NO.: NEW U.S. PCT APPLICATION

FILED: HERewith

INTERNATIONAL APPLICATION NO.: PCT/JP00/05731

INTERNATIONAL FILING DATE: August 24, 2000

FOR: ORGAN PRESERVATIVES

REQUEST FOR PRIORITY UNDER 35 U.S.C. 119
AND THE INTERNATIONAL CONVENTION

Assistant Commissioner for Patents
Washington, D.C. 20231

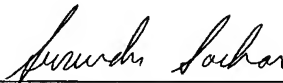
Sir:

In the matter of the above-identified application for patent, notice is hereby given that the applicant claims as priority:

<u>COUNTRY</u>	<u>APPLICATION NO</u>	<u>DAY/MONTH/YEAR</u>
Japan	11-244250	31 August 1999

Certified copies of the corresponding Convention application(s) were submitted to the International Bureau in PCT Application No. PCT/JP00/05731. Receipt of the certified copy(s) by the International Bureau in a timely manner under PCT Rule 17.1(a) has been acknowledged as evidenced by the attached PCT/IB/304.

Respectfully submitted,
OBLON, SPIVAK, McCLELLAND,
MAIER & NEUSTADT, P.C.



Norman F. Oblon
Attorney of Record
Registration No. 24,618
Surinder Sachar
Registration No. 34,423



22850

(703) 413-3000
Fax No. (703) 413-2220
(OSMMN 1/97)

日本国特許庁 24.08.00
PATENT OFFICE
JAPANESE GOVERNMENT

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出願年月日
Date of Application:

1999年 8月31日

REC'D 13 OCT 2000

WIPO

PCT

出願番号
Application Number:

平成11年特許願第244250号

出願人
Applicant (s):

藤沢薬品工業株式会社

JP00065731

PRIORITY
DOCUMENT
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

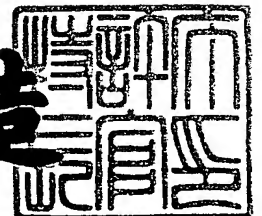
4



2000年 9月29日

特許庁長官
Commissioner,
Patent Office

及川耕造



出証番号 出証特2000-3078693

【書類名】	特許願
【整理番号】	FP04941-00
【提出日】	平成11年 8月31日
【あて先】	特許庁長官 殿

【国際特許分類】	C07D487/04
【発明者】	
【住所又は居所】	群馬県前橋市国領町 2 - 2 2 - 1 3 - 4 0 3
【氏名】	森下 靖雄
【発明者】	
【住所又は居所】	群馬県前橋市大渡町 1 - 1 6 - 1 - 2 - A
【氏名】	竹吉 泉
【特許出願人】	
【識別番号】	000005245
【氏名又は名称】	藤沢薬品工業株式会社
【代表者】	青木 初夫
【手数料の表示】	
【予納台帳番号】	016621
【納付金額】	21,000円
【提出物件の目録】	
【物件名】	明細書 1
【物件名】	要約書 1
【プルーフの要否】	要

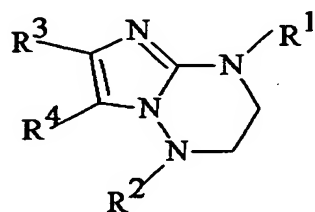
【書類名】 明細書
 【発明の名称】 臓器保存剤
 【特許請求の範囲】

【請求項 1】 インターロイキン-1 (IL-1) および/または腫瘍壊死因子 (TNF) の産生阻害剤を有効成分として含有することを特徴とする臓器保存剤。

【請求項 2】 インターロイキン-1 (IL-1) および/または腫瘍壊死因子 (TNF) の産生阻害剤が、インターロイキン-1 β (IL-1 β) および/または腫瘍壊死因子- α (TNF- α) である請求項 1 記載の臓器保存剤。

【請求項 3】 インターロイキン-1 (IL-1) および/または腫瘍壊死因子 (TNF) の産生阻害剤が、式：

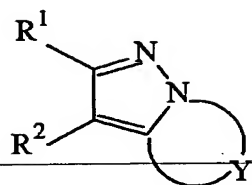
【化 1】



「式中、R¹は水素、低級アルキルまたはアシル、
 R²は水素、またはアシル、
 R³は適当な置換基を有していてもよいアリール、または適当な置換基を有していてもよい複素環基、および
 R⁴は適当な置換基を有していてもよい複素環基、複素環式（低級）アルキル、複素環式チオ、または複素環スルフィニルをそれぞれ意味する。」で表される化合物およびその塩である請求項 1 または 2 記載の臓器保存剤。

【請求項 4】 インターロイキン-1 (IL-1) および/または腫瘍壊死因子 (TNF) の産生阻害剤が、式：

【化 2】

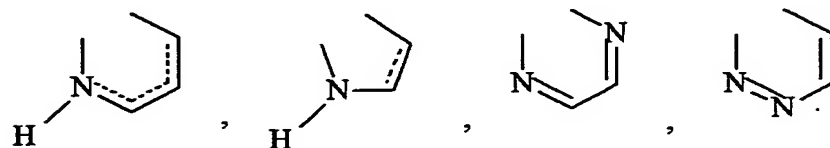


「式中、R¹は適当な置換基を有していてもよいアリールまたは適当な置換基を有していてもよい複素環基、

R²は適当な置換基を有していてもよいアリールまたは適当な置換基を有していてもよい複素環基、

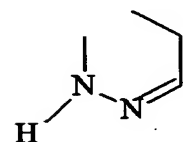
Yはそれぞれ適当な置換基を有していてもよい

【化 3】



および

【化 4】



(各式中、

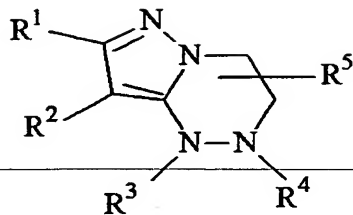
【化 5】

は単結合または二重結合を意味する。) から選ばれる二価の基、をそれぞれ意味する」で表される化合物およびその塩である請求項 1 または 2 記載の臓器保存剤

。

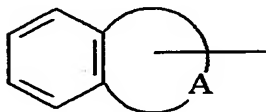
【請求項 5】 インターロイキン-1 (IL-1) および/または腫瘍壊死因子 (TNF) の産生阻害剤が、式：

【化 6】



「式中、 R^1 は適当な置換基を有していてもよいアリールまたは適当な置換基を有していてもよい複素環基であり、
 R^2 は適当な置換基を有していてもよいアリールまたは適当な置換基を有していてもよい複素環基であり、
 R^3 は水素またはアシルであり、
 R^4 は水素、低級アルキル、シクロ（低級）アルキル、シクロ（低級）アルキル（低級）アルキル、カルボキシ（低級）アルキル、保護されたカルボキシ（低級）アルキル、適当な置換基を有していてもよいアル（低級）アルキル、アル（低級）アルケニル、橋かけ三環式アルキル、適当な置換基を有していてもよい複素環基、アシルまたは式

【化 7】



（ここに、 A は低級アルキレンである）の基であり、
 R^5 は水素または低級アルキルである」で表される化合物およびその塩である請求項 1 または 2 記載の臓器保存剤。

【請求項 6】 化合物が 7 - (4 - フルオロフェニル) - 2 - フェニルグリオキシロイル - 8 - (ピリジン - 4 - イル) - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロピラゾロ [5, 1 - C] [1, 2, 4] トリアジンおよびその塩である請求項 5 記載の臓器保存剤。

【発明の詳細な説明】

【0 0 0 1】

【発明の属する技術分野】

本発明はインターロイキン-1 (IL-1) および/または腫瘍壊死因子 (TNF) の産生阻害剤を有効成分として含有することを特徴とする臓器移植手術における生体外の臓器保存剤に関するものであり、医療の分野で利用される。

【0002】

【従来の技術】

インターロイキン-1 (IL-1) および/または腫瘍壊死因子 (TNF) の産生阻害活性を有する化合物はWO92/12154、EP531901A2、WO94/19350等で知られているが、これらの化合物が、臓器移植手術における生体外の臓器保存剤として有用であることは知られていなかった。

【0003】

【発明が解決しようとする課題】

本発明は、肺、肝臓、心臓、腎臓、消化器（例えば、脾臓、小腸など）、脳などの臓器移植のために摘出された臓器を保存するのに有効な臓器保存剤を提供することを目的としてなされたものである。

【0004】

【課題を解決するための手段】

本発明者が前記課題を達成するために鋭意研究を進めた結果、本発明は臓器保存液中にインターロイキン-1 (IL-1) および/または腫瘍壊死因子 (TNF) の産生阻害剤を含有することにより、摘出した移植用臓器の劣化を防ぐことにより移植用臓器のviabilityを保つことができ、なおかつ生体外の臓器保存時間を有意に延長するという実験結果から、臓器保存剤として有効であるとの新たな知見に基づき本発明を完成した。

すなわち、本発明はインターロイキン-1 (IL-1) および/または腫瘍壊死因子 (TNF) の産生阻害剤を有効成分として含有することを特徴とする臓器保存剤である。

【0005】

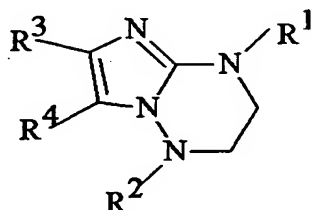
インターロイキン-1 (IL-1) および/または腫瘍壊死因子 (TNF) の産生阻害剤の好適な例としては、インターロイキン-1 β (IL-1 β) および/または腫瘍壊死因子- α (TNF- α) の産生阻害剤などが挙げられる。さらに

好適な化合物としては、

【0006】

式：

【化8】



【0007】

「式中、 R^1 は水素、低級アルキルまたはアシル、

R^2 は水素、またはアシル、

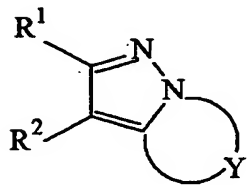
R^3 は適当な置換基を有していてもよいアリール、または適当な置換基を有していてもよい複素環基、および

R^4 は適当な置換基を有していてもよい複素環基、複素環式（低級）アルキル、複素環式チオ、または複素環スルフィニルをそれぞれ意味する。」で示されるWO92/12154（この公報を引用し、これをもって本明細書の一部とする）記載の化合物およびその塩、

【0008】

式：

【化9】



【0009】

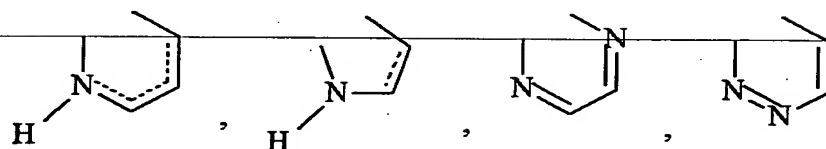
「式中、 R^1 は適当な置換基を有していてもよいアリールまたは適当な置換基を有していてもよい複素環基、

R^2 は適当な置換基を有していてもよいアリールまたは適当な置換基を有していてもよい複素環基、

Yはそれぞれ適当な置換基を有していてもよい

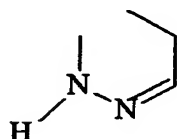
【0010】

【化10】



および

【化11】



【0011】

(各式中、

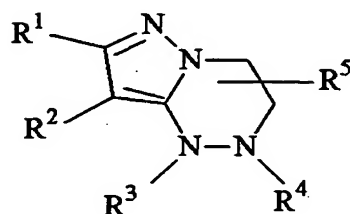
【化12】

は単結合または二重結合を意味する。)から選ばれる二価の基、をそれぞれ意味する」で示されるEP 531901A2 (この公報を引用し、これをもって本明細書の一部とする)記載の化合物およびその塩、

【0012】

3. 式:

【化13】



【0013】

「式中、R¹は適当な置換基を有していてもよいアリールまたは適当な置換基を有していてもよい複素環基であり、

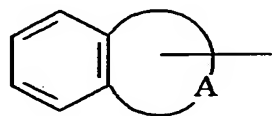
R²は適当な置換基を有していてもよいアリールまたは適当な置換基を有してい

てもよい複素環基であり、

R^3 は水素またはアシルであり、

R^4 は水素、低級アルキル、シクロ（低級）アルキル、シクロ（低級）アルキル
 -（低級）アルキル、カルボキシ（低級）アルキル、保護されたカルボキシ（低
 級）アルキル、適当な置換基を有していてもよいアル（低級）アルキル、アル（
 低級）アルケニル、橋かけ三環式アルキル、適当な置換基を有していてもよい複
 素環基、アシルまたは式

【化 1 4】



【0 0 1 4】

（ここに、Aは低級アルキレンである）の基であり、

R^5 は水素または低級アルキルである」で示されるWO 9 4 / 1 9 3 5 0（この公
 報を引用し、これをもって本明細書の一部とする）記載の化合物およびその塩（
 より好ましくは7-（4-フルオロフェニル）-2-フェニルグリオキシロイル
 -8-（ピリジン-4-イル）-1, 2, 3, 4-テトラヒドロピラゾロ [5,1-c
] [1,2,4] トリアジン・硫酸塩である）などが挙げられるが、これらに限定される
 ものではなく、公知のあるいは新規なインターロイキン-1（IL-1）および
 /または腫瘍壊死因子（TNF）の産生阻害剤を本発明に使用することが出来る

【0 0 1 5】

インターロイキン-1（IL-1）および/または腫瘍壊死因子（TNF）の
 産生阻害剤として例示した上記の公知化合物は上記文献に記載の方法または慣用
 の方法により製造することが出来る。

さらに、インターロイキン-1（IL-1）および/または腫瘍壊死因子（TN
 F）の産生阻害剤に不斉炭素原子による立体異性体が存在する場合、各々の立体
 異性体およびそれらの混合物も本発明におけるインターロイキン-1（IL-1
 ）および/または腫瘍壊死因子（TNF）の産生阻害剤に包含される。

【0016】

上記化合物1, 2, 3の適当な塩としては、慣用の無毒性塩が挙げられ、それらとしては、無機塩基との塩、たとえばアルカリ金属塩（たとえばナトリウム塩、カリウム塩など）、アルカリ土類金属塩（たとえばカルシウム塩、マグネシウム塩など）、アンモニウム塩；有機塩基との塩、たとえば有機アミン塩（たとえばトリエチルアミン塩、ピリジン塩、ピコリン塩、エタノールアミン塩、トリエタノールアミン塩、ジシクロヘキシルアミン塩、N, N'-ジベンジルエチレンジアミン塩など）；無機酸付加塩（たとえば塩酸塩、臭化水素酸塩、硫酸塩、リン酸塩など）、有機カルボン酸またはスルホン酸付加塩（たとえば蟻酸塩、酢酸塩、トリフルオロ酢酸塩、マレイン酸塩、酒石酸塩、フマル酸塩、メタンスルホン酸塩、ベンゼンスルホン酸塩、トルエンスルホン酸塩など）；塩基性または酸性アミノ酸（たとえばアルギニン、アスパラギン酸、グルタミン酸など）との塩などの、塩基との塩または酸付加塩が挙げられる。

【0017】

上記化合物1, 2, 3は、水、エタノール、グリセロールなどと溶媒和物を形成することができ、このような溶媒和物も本発明のインターロイキン-1（IL-1）および/または腫瘍壊死因子（TNF）の産生阻害剤に含まれる。

【0018】

本発明のインターロイキン-1（IL-1）および/または腫瘍壊死因子（TNF）の産生阻害剤は、生体外の臓器保存剤の有効成分として有用である。

【0019】

上記臓器保存剤は、摘出後の移植用臓器を保存するために保存液の状態で行うことができ、例えば、生理食塩水、リン酸緩衝生理食塩水、クエン酸緩衝液などの生理的に許容される緩衝液や等張化液などに、有効成分である上記臓器保存剤を1種または2種以上を溶解して調整することが出来る。

【0020】

好ましくは、従来より移植用臓器の保存液として臨床的に用いられている、ユーロコリンズ液（Euro-Collins液）、USP4879283号、USP4873230号（これら2つの公報を引用し、これをもって、本明細書の

一部とする)に開示されているウイスコンシン大学 (University of Wisconsin) 溶液 (UW液) またはスタンフォード溶液 (Stanford Solution) 等に上記臓器保存剤を1種または2種以上溶解して調整するのが好ましい。

【0021】

さらに、インターロイキン-1 (IL-1) および/または腫瘍壊死因子 (TNF) の産生阻害剤である 7-(4-フルオロフェニル)-2-フェニルグリオキシロイル-8-(ピリジン-4-イル)-1, 2, 3, 4-テトラヒドロピラゾロ [5,1-c] [1,2,4] トリアジン・硫酸塩 (WO94/19350の実施例28に開示の化合物) に p38 MAPキナーゼ阻害作用を有することが予想されること (Y. Otani et al. Transplantation Proceedings, 31, 1010-1011 (1999) 参照) から、p38 MAPキナーゼ阻害剤も臓器移植手術における生体外の臓器保存剤として有効であることが想定される。

【0022】

本発明の臓器保存剤の使用量は取り出した臓器の種類、大きさ、保存の状態などにより異なるが、通常、その有効成分であるインターロイキン-1 (IL-1) および/または腫瘍壊死因子 (TNF) の産生阻害剤を、最終濃度が保存液中 $0.1 \mu\text{g/ml} \sim 50 \mu\text{g/ml}$ の範囲内に、好ましくは $5 \mu\text{g/ml} \sim 20 \mu\text{g/ml}$ の範囲になるよう調整して使用される。

【0023】

【実施例】

以下、試験例を挙げて本発明をさらに詳細に説明するが、本発明はこれらに限定されるものではない。

試験例1： 持続冠灌流保存法を用いての臓器保存効果の検討

試験方法

10~15Kgの雑種成犬11組を用いた。静脈麻酔・気管内挿管後人工呼吸管理とした。右第4肋間開胸後、ドナー犬の心拍出量 (CO)、左室圧 (LVP)、左室圧一次微分値 (左室圧の増加率と減衰率: $\pm LV dp/dt$) を測定し

た。4℃のGIK液で心停止を得、4℃のUniversity of Wisconsin (UW) 液で冠血管床をwashout後、心臓を摘出し群馬大学式冠灌流装置 (Journal of Japan Surgical Society 99 (7) : 469, 1998; または Journal of Therapy Vol. 80. No. 12, 76-77, 1998 参照) を用いて12時間保存した。実験を対照群 (CP群、n=6) と試験化合物添加群 (FR群、n=5) に分け、灌流液には両群とも4℃のUW液を用い、冠灌流量は30~50ml/hrに維持した。FR群には灌流液に試験化合物を20mg/Lの濃度で添加した。保存終了後、体外循環 (CPB) 下に同所性に移植した。再灌流1時間後に全例CPBから離脱した。CPB離脱2時間後 (すなわち再灌流3時間後) にCVP10mmg、Dopamine (DOA) 5 μ g/kg/min投与下にCO、LVP、 \pm LVdp/dtを測定し、心摘出前値に対する変化率で2群間を比較した。

【0024】

試験化合物

7-(4-フルオロフェニル)-2-フェニルグリオキシロイル-8-(ピリジン-4-イル)-1,2,3,4-テトラヒドロピラゾロ[5,1-c][1,2,4]トリアジン・硫酸塩 (WO94/19350の実施例28に開示の化合物)

【0025】

試験結果

【表 1】

	CPB離脱2時間後	
	CP群	FR群
CO	99±13	178±29*
LVP	93±14	121±9
LVdp/dt	117±35	187±35
-LVdp/dt	63±6	152±45*

Mean ± SEM

* p < 0.05

【0026】

表1から明らかなように、CPB離脱2時間後のCO及び-LVdp/dtはいずれもFR群がCP群と比較して有意に（ $P < 0.05$ ）高値であった。他の値は、2群間で有意差はなかったが、CP群では時間経過に伴い血行動態が低下したのに比べ、FR群では血行動態の著明な低下を認めなかった。

試験例2：毒性試験

試験化合物（10mg/kg）をラット（一群 雌雄各5匹）に1日1回週7日2週間経口投与したが途中死亡例は認められなかった。

【0027】

【発明の効果】

臓器保存液中にインターロイキン-1（IL-1）および/または腫瘍壊死因子（TNF）の産生阻害剤を含有することにより、摘出した移植用臓器の劣化を防ぐことにより移植用臓器のviabilityを保つことができ、生体外の臓器保存時間を有意に延長するという以上の実験結果から、インターロイキン-1（IL-1）および/または腫瘍壊死因子（TNF）の産生阻害剤は臓器保存剤として有効である。

【書類名】 要約書

【要約】

【課題】本発明は、生体外の臓器保存効果を有する優れた試薬を提供する。

【解決手段】インターロイキン-1（IL-1）および/または腫瘍壊死因子（TNF）の産生阻害剤を有効成分として含有することを特徴とする臓器保存剤を提供する。

【選択図】 なし

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 [000005245]

1. 変更年月日 1990年 8月17日

[変更理由] 新規登録

住 所 大阪府大阪市中央区道修町3丁目4番7号

氏 名 藤沢薬品工業株式会社

